Effect of oral administration of efficient microorganisms on productive indicators, diarrheal syndrome and blood count in suckling pigs

Efecto de la administración oral de microorganismos eficientes en los indicadores productivos, síndrome diarreico y hemograma en cerdos lactantes

María Celia Carvajal[1], R. Aroche[2], E. Castro[1], María Rosa León[3], J. Guilarte[3], y R. Rodríguez[4] and Y. Martínez[5]*

[1]Departamento de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Bayamo, Granma, Cuba

[2]Departamento de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Bayamo, Granma, Cuba

[3]Patio Integral La Rosita, Agricultura Urbana, Manzanillo, Granma, Cuba

[4]Centro de Estudios de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Cuba

[5]Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Universidad de Zamorano, Honduras

María Celia Carvajal https://orcid.org/0000-0002-6757-8283

Email: ymartinez@zamorano.edu

R. Aroche: https://orcid.org/0000-0002-3940-1026

E. Castro: https://orcid.org/0000-0001-6083-5307

María Rosa León: https://orcid.org/0000-0002-9250-899X

J. Guilarte: https://orcid.org/0000-0002-8356-4420

R. Rodríguez: https://orcid.org/0000-0003-2641-1767

Y. Martínez: https://orcid.org/0000-0003-2167-4904

In order to evaluate the effect of oral administration of efficient microorganisms on the productive indicators, diarrheal syndrome and blood count in suckling pigs, an experiment with 20 piglets, one day old (1.83 ± 0.31 kg of live weight) was developed, in the enterprise Cría Pedregales, belonging to Empresa Porcina Granma, Cuba. Two treatments were established: T1) basal diet and T2) oral supply of 5 mL of efficient microorganisms for seven consecutive days, from 24 h after born and after ingestion of colostrums. The addition of efficient microorganisms significantly increased the mean daily gain in the periods 7-14, 14-21 and 1-21 days of life (P <0.05) and decreased the incidence of diarrhea by 2.86 % during the 21 days of the study (P <0.05). In addition, this additive did not affect the blood indicators of pigs (P> 0.05), and all the animals showed normal parameters for this pig category. Oral administration of 5 mL with efficient microorganisms (GERMEVIT) is recommended during the first seven days of life to improve productive indicators and reduce the presence of diarrhea, without modifying the blood count of suckling pigs.

Key words: *microbial additive, suckling piglet, diarrhea, hematological parameter, productivity*

Para evaluar el efecto de la administración oral de microorganismos eficientes en los indicadores productivos, síndrome diarreico y hemograma en cerdos lactantes se desarrolló un experimento con 20 crías porcinas de un día de nacidas (1.83± 0.31 kg de peso vivo), en la UEB "Cría Pedregales", Empresa Porcina Granma, Cuba. Los tratamientos consistieron en una dieta basal (DB; T1) y el suministro vía oral de 5 mL de microorganismos eficientes (ME) en 7 días consecutivos (T2), a partir de las 24 horas de nacidos y posterior a la ingestión del calostro. La adición de ME incrementó significativamente la GMD en los periodos de 7-14, 14-21 y 1-21 días de vida (P<0.05) y redujo la incidencia de diarrea en 2.86 % durante los 21 días del estudio (P<0.05). Además, este aditivo (ME) no afectó los indicadores sanguíneos de los cerdos (P>0.05) y todos los animales mostraron parámetros normales para esta categoría porcina. Se recomienda la administración oral de 5 mL con microorganismos eficientes (GERMEVIT) durante los primeros 7 días de vida para mejorar los indicadores productivos y reducir la presencia de diarreas, sin modificar el hemograma de los cerdos lactantes.

Palabras clave: *aditivo microbiano, cría lactante, diarrea, parámetro hematológico, productividad*

Pig production is one of the main sources of animal protein available to humanity, so that in the world there is a growing demand for this food source and other species of economic and nutritional interest (USDA 2018). Pigs have characteristics that differentiate them and make them preferential for many producers. Among them highlighted, the heterogeneity of the diet and its good conversion, adaptability and high prolificacy, as well as the carcass yield, made up of

La producción porcina es una de las principales fuentes de proteína animal con que cuenta la humanidad, así existe una demanda creciente de esta fuente alimenticia a nivel mundial, conjuntamente con otras especies de interés económico y nutritivo (USDA, 2018). Los cerdos tienen características que los diferencian y los hacen preferenciales para muchos productores. Sobresale la heterogeneidad de su dieta, su buena conversión, adaptabilidad y alta prolificidad, así como el rendimiento de la canal, constituida por niveles

VISIT…

LANZAROTE Caliente.COM

representative levels of proteins and lipids (Pexas *et al.* 2020).

It is common to observe in the pig sector that due to semi-intensive or intensive production, these animals have microbial dysbiosis and, in turn, gastrointestinal disorders, being this one the main cause of deaths in the farrowing area. Given these conditions, preventive measures have been applied to reduce this unwanted parameter, with the objective of improving the technological flow and optimizing the productive indices of farms (Tkacheva and Medvedev 2020). Antibiotics are used from the first days of life in the diets of monogastric animals, with the objective of increasing competitive exclusion in the microflora of the gastrointestinal tract (GIT), which controls enteric processes of a subclinical nature, frequent in intensive production. However, antibiotics can increase the number of resistant strains, as well as transfer cross-resistance to other microorganisms (Más *et al.* 2016).

Several researches have been directed to orally include zootechnical additives to improve food conversion rates and reduce diarrheal syndrome and mortality in the enterprise (Ojeda-García *et al.* 2016). Probiotics have been used in all pig categories, although with more emphasis on suckling and weaned pigs. They are considered one of the most viable alternatives to eliminate the use of medicated feed for pigs. Studies have confirmed that the use of beneficial microorganisms improves the digestibility of nutrients, intestinal integrity, antioxidant capacity and competitive exclusion of the gastrointestinal tract and therefore directly impacts the productive response of pigs (Ojeda-García *et al.* 2016).

Currently, the international scientific community has great interest in the study and applicability of efficient microorganisms (EM) in agricultural and livestock production. Although the results are not conclusive, these microorganisms stimulate the diversity of the intestinal flora, reduce inflammation of the intestine, improve the use of nutrients, decrease the excretion of N and improve the biological indicators of the animals (Kim and Baik 2019). However, little research has been done about its effect on suckling pigs, taking into account that it is the most susceptible pig category. That is why the objective of this research was to evaluate the oral effect of efficient microorganisms on bioproductive indicators, diarrheal syndrome and blood count in piglets.

Material and Methods

Experimental location. The research was carried out in the Enterprise Cría Pedregales, belonging to Empresa Porcina Granma, Cuba. This facility is located in the geographic quadrant 86-148-26. The average annual temperature is 25.7 ºC and the average relative humidity is 78 %. The purpose of this enterprise is to produce and commercialize pre-fattening at weaning.

representativos de proteínas y lípidos (Pexas *et al.* 2020).

Aparejado a estos aspectos, es común observar en el sector porcino que debido a la producción semi-intensiva y/o intensiva estos animales presentan disbiosis microbiana y a su vez trastornos gastrointestinales, siendo la principal causa de muertes en el área de maternidad, así se han utilizado medidas preventivas para reducir este parámetro indeseado, con el objetivo de mejorar el flujo tecnológico y optimizar los índices productivos de las granjas (Tkacheva y Medvedev 2020). En este sentido, los antibióticos se emplean desde los primeros días de vida en las dietas de los animales monogástricos con el objetivo de aumentar la exclusión competitiva en la microflora del tracto gastrointestinal (TGI), lo que controla procesos entéricos de naturaleza subclínica, frecuentes en la producción intensiva. No obstante, los antibióticos pueden aumentar el número de cepas resistentes, así como transferir resistencia cruzada a otros microorganismos (Más *et al.* 2016).

En este sentido, se han promovido investigaciones dirigidas a incluir oralmente aditivos zootécnicos para mejorar los índices de conversión alimentaria y reducir el síndrome diarreico y la mortalidad de las unidades productivas (Ojeda-García *et al.* 2016). Los probióticos se han utilizado en todas las categorías porcícolas, aunque con más énfasis en cerdos lactantes y detestados y son considerados una de las alternativas más viables para suprimir el uso de piensos medicamentados para estos animales. Los estudios han confirmado que el empleo de microorganismos benéficos mejora la digestibilidad de los nutrientes, la integridad intestinal, la capacidad antioxidante y la exclusión competitiva del tracto-gastrointestinal y por ende impactan directamente en la respuesta productiva de los cerdos (Ojeda-García *et al.* 2016).

Actualmente, la comunidad científica internacional tiene gran interés en el estudio y aplicabilidad de los microorganismos eficientes (ME) en la producción agrícola y pecuaria, aunque los resultados no son concluyentes, estos microrganismos estimulan la diversidad de la flora intestinal, desinflaman el intestino, mejoran el aprovechamiento de los nutrientes, disminuyen la excreción de N y mejoran los indicadores biológicos de los animales (Kim y Baik 2019). Sin embargo, poco ha sido investigado sobre su efecto en crías porcinas lactantes, teniendo en cuenta que es la categoría porcina más susceptible, por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto oral de los microorganismos eficientes en los indicadores bioproductivos, síndrome diarreico y hemograma en crías porcinas.

Materiales y métodos

Ubicación experimental. La investigación se realizó en la unidad empresarial de base (UEB) “Cría Pedregales” ubicada en el cuadrante geográfico 86-148-26, perteneciente a la Empresa Porcina, Granma, Cuba. La temperatura anual promedio fue de 25.7 ºC, la humedad relativa promedio de 78 % y el propósito de la UEB es producir y comercializar precebas al destete.

Efficient microorganisms GERMEVIT. The efficient microorganisms GERMEVI were used, which come from the enterprise Patio Integral Agroecológico La Rosita, located in

Manzanillo municipality, Granma, Cuba. Worm humus, whey, molasses and rice powder were used to make GERMEVIT, and a liquid fermentation was developed. The chemical and microbiological characteristics of GERMEVIT were determined, according to the classic methods proposed by the AOAC (2006) and the Cuban Standard 585 (2017), respectively. This additive (EM) has 6.46 % of dry matter, 53.76 g / L of chemical oxygen demand (COD), 392 mg/L of Nt, 2100 mg/L of K, 290 mg/L of Na, 15.86 % of CF, 3.77 of pH, 9 x 10^5 of mesophilic bacteria and 2.33 x 10^1 of coliform organisms; 2.33 x 10^3 of proteolytics, 0.66 x 10^3 of total fungi, 45.66 x 10^7 of *Lactobacillus spp*. and absence of pathogenic bacteria.

Animals and treatments. From a total of 20 litters, two were selected at random, with 10 piglets each, one day old, from the Yorkshe-Yorkland x CC21 cross. The breeders had three furrowing and each suckling piglet constituted an experimental unit. Two experimental treatments were established: T1) basal diet (DB); T2) oral supply of 5 mL of EM on 7 consecutive days, from 24 h after born, and after ingestion of colostrum. The experiment lasted 21 days and the methodology proposed by Betancur *et al.* (2021) was used. To select the dose and supplying frequency, Zamora *et al.* (2020) results were considered.

Experimental conditions. The feeding of the suckling sows was restricted at a rate of 2 kg / animal/d and 450 g were added for each piglet (De Bettio *et al.* 2016).The food was supplied twice a day (8:00 a.m. and 3:00 p.m.) in 52 cm x 16 cm tubular feeders and water *ad libitum* in automatic nipple drinkers. After three days, the piglets were offered a pre-start diet in pellet form, at a rate of 10 g/animal/day, which was consecutively increased until reaching 300 g/animal/day in two frequencies (8:00 a.m. and 3:00 pm) (Betancur *et al.* 2021). Heating lamps were used to manage the temperature of the suckling piglets, in a range of 30 ºC (at the entrance) with progressive reduction to 26 ºC (at the exit). Table 1 shows the ingredients of the diets for suckling sows and suckled piglets.

Productive indicators and diarrheal syndrome. The individual body weight of piglets was determined at birth, at 7, 14 and 21 d, according to Cheng *et al.* (2019) methodology using a digital balance with a precision of ± 0.1 g, scale (OSBORNE®, model 37473®, Kansas, Missouri, USA). With these data, the daily weekly weight gain was determined. The incidence of diarrhea (ID) in piglets was determined during the experimental period using the formula ID = number of diarrhea/ (number of animals × total days) × 100 (Liu

Microorganismos Eficientes "GERMEVIT". Se utilizó los microrganismos eficientes "GERMEVIT" que provienen de la empresa Patio Integral Agroecológico "La Rosita", ubicado en el municipio Manzanillo, Granma, Cuba. Para la elaboración de GERMEVIT se empleó humus de lombriz, lactosuero, miel y polvo de arroz y se desarrolló una fermentación en estado líquido. Se determinó las características químicas y microbiológicas del GERMEVIT según los métodos clásicos propuestos por la AOAC (2006) y la Norma Cubana 585 (2017), respectivamente. Este aditivo (ME) tiene 6.46 % de materia seca; 53.76 g/L de demanda química de oxígeno (DQO); 392 mg/L de Nt; 2100 mg/L de K; 290 mg/L de Na; 15.86 % de FB; 3.77 de pH; 9x10^5 de bacterias mesófilas; 2.33x10^1 de organismos coliformes; 2.33x10^3 de organismos proteolíticos; 0.66x10^3 de hongos totales; 45.66x10^7 de *Lactobacillus spp*. y ausencia de bacterias patógenas.

Animales y tratamientos. De un total de 20 camadas, se seleccionaron al azar dos camadas con 10 crías cada una, de un día de nacidos, del cruce Yorkshire-Yorkland x CC21, donde las reproductoras tenían tres partos y cada cerdito lactante constituyó una unidad experimental. Los tratamientos experimentales consistieron: dieta basal (DB; T1) y el suministro vía oral de 5 mL de ME en 7 días consecutivos (T2), a partir de las 24 horas de nacidos y posterior a la ingestión del calostro. Se utilizó la metodología propuesta por Betancur *et al.* (2021). Para seleccionar la dosis y la frecuencia de suministro se tomó en cuenta los resultados publicados por Zamora *et al.* (2020).

Condiciones experimentales. La alimentación de las cerdas lactantes se restringió a razón de 2 kg/animal/día y se agregaron 450 g por cada lechón (De Bettio *et al.* 2016). El alimento se suministró dos veces al día (8:00 am y 3:00 pm) en comederos tubulares de 52 cm x 16 cm y el agua estuvo disponible *ad libitum* en bebederos automáticos tipo tetina. A partir de los tres días se ofreció a los cerditos una dieta de pre-inicio en forma de pellets a razón de 10 g/animal/día, la cual se incrementó de forma consecutiva hasta llegar a 300 g/animal/día en dos frecuencias (8:00 am y 3:00 pm) (Betancur *et al.* 2021). Se utilizaron lámparas calefactoras para manejar la temperatura de los lechones lactantes en un rango de 30 ºC (a la entrada) con reducción progresiva a 26 ºC (a la salida). La tabla 1 muestra los ingredientes de las dietas de cerdas en lactancia y pre-inicio de los cerditos.

Indicadores productivos y síndrome diarreico. El peso corporal individual de los cerditos se determinó al nacimiento, 7, 14 y 21 días según la metodología de Cheng *et al.* (2019) mediante una balanza digital con una precisión de ± 0.1 g, escala (OSBORNE®, modelo 37473®, Kansas, Missouri, EE. UU.). Con estos datos se determinó la ganancia diaria de peso semanal. Además, la incidencia de diarrea (DI) en los cerditos se determinó durante el período experimental utilizando la siguiente fórmula: DI=número de diarreas/(número de animales × días totales) × 100 (Liu *et al.* 2016).

Table 1. Ingredients of diets for suckling sows and suckled piglets

Ingredients, %	Suckling	Pre-start
Corn meal	63.00	36.00
Soybean meal	26.00	20.00
Wheat bran	4.00	-
Soybean oil	3.00	2.00
Sugar		2.00
Suckling[1] nucleous	4.00	
Pre-start[2] nucleous		40.00

[1]Suckling nucleous per kilogram of product: folic acid 37.5 mg, pantothenic acid 300 mg, BHT 3.750 mg, biotin 5 mg, Ca 205000 mg, Co 6 mg, Cu 250, choline 10000 mg, Fe 2000 mg, P 51000 mg, Yo 25 mg, Mn 1250 mg, niacin 800 mg, Se 9 mg, Na 44000 mg, Zn 3125 mg; vitamins 250000 UI (B_1 60 mg, B_{12} 600 mcg, B_2 150 mg, B_6 80 mg, C 1250 mg, D_3 50000 UI, E 1250 mg, K_3 100 mg) Zn 3125 mg.

[2]Pre-start nucleous per kilogram of product: whey and powdered milk, skimmed milk powder, choline, extrude soybean, corn, sugar, fumaric acid, vegetable oil, dicalcium phosphate, threonine, tryptophan, calcium, mineral premixture, L-lysine, vitamin premixture, sodium chloride, DL-methionine, butyl-hydroxytoluene (BHT); vitamins 360.000 UI (D_3 7.500 UI, E 450 mg, K_3 18 mg, B_1 12 mg, B_2 29.5 mg, B_6 13.5 mg, B_{12} 0.01 mg, C 300 mg), niacin 118 mg, pantothenic acid 47.5 mg, folic acid 3.25 mg, biotin 0.75 mg, choline 1.800 mg, Fe 875 mg, Cu 625 mg, Mn 180 mg, Zn 625 mg, Co 3.25 mg

et al. 2016).

Blood count. Five pigs, 21 d old, identified by an ear tag, were used for each treatment. After previously disinfecting the jugular area, 5 mL of blood samples were collected, whose containment was adequate. The extraction was carried out between 7:00 and 8:00 a.m., with 21 G x 1½ needles. To obtain blood plasma, the anticoagulant EDTA K2 was used, at a rate of 1 mL for every 2 mL of blood. Blood samples were determined using a Mindray hematology analyzer (Model BC-280. Vet. 2016, China). The values of red blood cells, white blood cells, hemoglobin, hematocrit and platelets were determined and compared with the reference values for this species and category.

Statistical analysis. A Student's t test was performed for two independent samples and the results were expressed as mean and ± SE. The initial weight of pigs was processed through an analysis of covariance ($P < 0.05$) to determine the effect on live weights at 7, 14 and 21 d of age. The data were processed using the statistical program SPSS 23.0.1.2014 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Hemograma. Para este estudio, se utilizaron cinco cerdos por cada tratamiento a los de 21 días edad, los cuales se identificaron marcados en la oreja. Se recolectaron 5 mL de muestras de sangre de la vena yugular con agujas 21 G x 1½, previa desinfección de la zona, contención adecuada y entre las 7:00 y 8:00 am. Para la obtención del plasma sanguíneo, se utilizó el anticoagulante EDTA K2 a razón de 1 mL por cada 2 mL de sangre. Las muestras de sangre se determinaron mediante un analizador hematológico Mindray (Modelo BC-280. Vet. 2016, China). Se determinó los valores de glóbulos rojos, glóbulos blancos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas; los cuales, se compararon con los valores referenciales para esta especie y categoría.

Análisis estadístico. Se realizó una prueba de T student para dos muestras independientes y los resultados se expresan como media y ± EE. Además, el peso inicial de los cerdos se procesó mediante un análisis de covarianza ($P<0.05$) para determinar el efecto en los pesos vivos a los 7, 14 y 21 días de edad. Los datos se procesaron mediante el programa estadístico SPSS 23.0.1.2014 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

Results and Discussion

Table 2 shows the effect of oral supply of EM (GERMEVIT) on live weight and mean daily gain (MDG) of suckling pigs. Live weight at born of pigs showed significant differences between treatments

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se observa el efecto de la administración oral de microorganismos eficientes (GERMEVIT) en el peso vivo y la ganancia media diaria de cerdos lactantes. El peso vivo al nacimiento de los cerdos mostró

(P <0.05). The covariance confirmed that the initial live weight did not significantly influence (P> 0.05) on the productive indicators analyzed in the following experimental weeks. However, the oral use of EM directly influence on live weight and MDG in suckling pigs during the periods of 7-14, 14-21 and 1-21 d of life (P <0.05). There was not morbidity and mortality processes (data not shown) in suckling pigs, due to the experimental treatments.

Table 2. Effect of oral supply of efficient microorganisms (GERMEVIT) on the productive performance of suckling pigs

Items	Experimental treatments		SE ±	P value	Covariate P value
	Control	Efficient microorganisms			
Live weight (kg)					
at born	2.08	1.58	0.07	<0.001	
7 days	3.35	2.99	0.05	0.014	0.072
14 days	4.90	4.90	0.07	0.468	0.384
21 days	6.41	6.61	0.08	0.095	0.241
MDG (g/pig/d)					
1-7 days	181.34	201.70	5.70	0.080	
7-14 days	193.09	240.17	9.54	0.013	
14-21days	251.83	285.97	4.71	<0.001	
1-21 days	205.95	239.89	5.23	<0.001	

One of the objectives of this study was to verify if the oral use of EM could have a positive effect on the two most important productive indicators in suckling pigs, especially for the susceptibility of these newborn animals, due to the recurrence of dysbiosis, as a consequence of the low colonization of lactic acid bacteria in the large intestine (Liu *et al.* 2016). These results show that EM (mainly *Lactobacillus spp*.) could colonize the GIT, improve intestinal health and therefore, weight gain in 24.38, 13.56 and 16.48 %, for the second and third week of life and throughout the experimental period, respectively.

Montejo-Sierra *et al.* (2017) reported that the dose of 3 mL/animal of EM stimulated the MDG from the second week of life with respect to what was registered in the control. Hou *et al.* (2016) and Michiels *et al.* (2016) stated that oral supplementation with *Lactobacillus spp*. in suckling pigs, improved nutrient absorption, competitive exclusion of bacteria in the colon and intestinal villi morphometry, which promoted MDG. Betancur *et al.* (2021) showed that oral probiotic use improved acid base status and weight gain in pigs up to 21 d after born. This study shows that the supply of EM after born, in early stages, could be the optimal time to manipulate the microbiota and improve the intestinal health and immunity of pigs, before and after weaning. The results confirm that the mineral-rich GERMEVIT with *Lactobacillus spp*. ($45.66x10^7$) and low pH (3.77), it is safe for oral use in suckling piglets. It should highlighted that

diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05). La covarianza confirmó que el peso vivo inicial no influyó (P>0.05) significativamente en los indicadores productivos analizados en las siguientes semanas experimentales. Sin embargo, el uso oral de los ME tuvo influencia directa en el peso vivo y GDM en los cerdos lactantes en los periodos de 7-14, 14-21 y 1-21 días de vida (P<0.05). Asimismo, no se encontraron (datos no mostrados) procesos de morbimortalidad en los cerdos lactantes debido a los tratamientos experimentales.

Uno de los objetivos era comprobar si el uso oral de ME podría tener impacto positivo en los dos indicadores productivos más importantes en los cerdos lactantes, sobre todo por la susceptibilidad de estos animales recién nacidos debido a la disbiosis recurrente por la baja colonización de bacterias ácido-lácticas en el intestino grueso (Liu *et al.* 2016). Estos resultados demuestran que los ME (principalmente *Lactobacillus spp*.) podrían colonizar el TGI, mejorar la salud intestinal y por ende la ganancia de peso en 24.38, 13.56 y 16.48 % para la segunda y tercera semana de vida y para todo el periodo experimental, respectivamente.

En este sentido, Montejo-Sierra *et al.* (2017) reportaron que dosis 3 mL/animal de ME promovió la ganancia media diaria a partir de la semana segunda de vida comparado con el tratamiento control. Además, Hou *et al.* (2016) y Michiels *et al.* (2016) mencionaron que la suplementación oral con *Lactobacillus spp*. en cerdos lactantes mejoró la absorción de nutrientes, la exclusión competitiva de bacterias en el colón y la morfometría de las vellosidades intestinales, lo que promovió la GMD. Asimismo, Betancur *et al.* (2021) demostraron que el uso oral de probiótico mejoró el estado ácido-básico y la ganancia de peso en cerdos hasta 21 días después del nacimiento. Este estudio demuestra que la administración de ME en etapas tempranas posterior al nacimiento podría ser el momento óptimo para manipular la microbiota y mejorar la salud intestinal y la inmunidad de los cerdos antes y después del destete. Los resultados

there are still contradictions about the use of this zootechnical additive, with regard to the dose, the way of supplying, the preparation, the types of substrates and the productive categories (Montejo-Sierra *et al.* 2017).

As shown in figure 1, the oral use of efficient microorganisms reduced the incidence of diarrhea by 2.86 % with respect to control during the 21 days of the study.

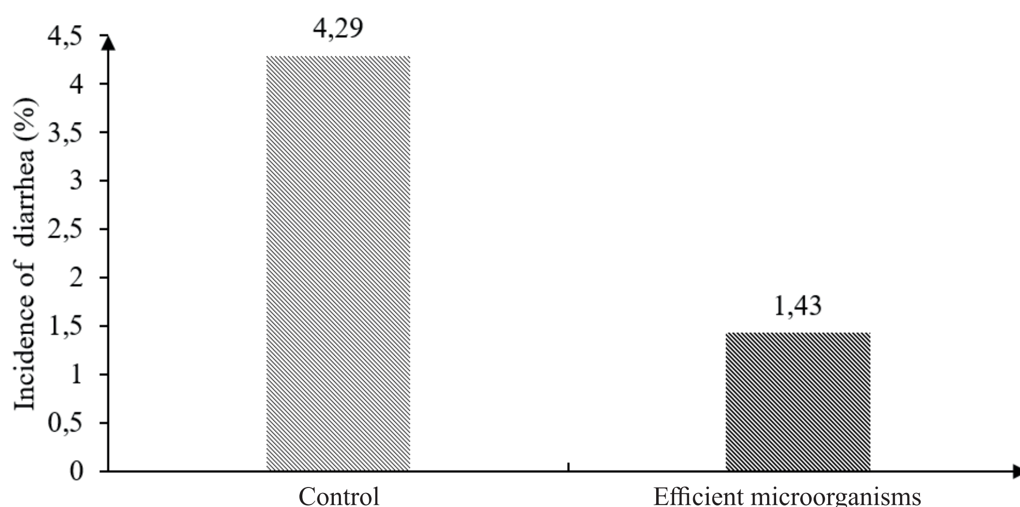


Figure 1. Effect of oral supply of efficient microorganisms (GERMEVIT) on the incidence of diarrhea in suckling pigs (P <0.05).

The oral use of EM decreased the incidence of diarrheal syndrome, if it is taken into account that it is the main condition in suckling and weaned pigs (Cai *et al.* 2016), mainly caused by microbial dysbiosis. In this way, the oral use of EM can modulate the intestinal microflora, cause competitive microbial exclusion and, in turn, decrease the loss of electrolytes and water. Miranda *et al.* (2017) showed that oral supplementation with EM in piglets and fattening piglets reduced the presence of diarrhea. These authors recommended this practical strategy to reduce the proliferation of pathogens and the risk of intestinal infections. The presence of *Lactobacillus spp*. in the GERMEVIT it could also influence on the lower incidence of diarrhea in piglets, because these bacteria are common probiotics in the GIT, which play an important activity in defense against pathogens, acting as an intestinal barrier and immunity in pigs (Yang *et al.* 2017).

Song *et al.* (2010) showed that the use of allochthonous microorganisms (bacteria and yeasts) in pig production reduced the incidence of diarrhea and promoted bioproductive parameters. Zamora *et al.* (2020) reported that the oral use of EM and the probiotic VITAFER, with respect to the control diet without additives, markedly reduced the diarrheal syndrome. Rodríguez *et al.* (2013) showed that the oral use of a preparation with autochthonous microorganisms in pigs decreased the diarrheal

confirman que el GERMEVIT rico en minerales, con *Lactobacillus spp*. (45.66x10^7) y con un bajo pH (3.77) es seguro para ser utilizado oralmente en los cerditos lactantes. Destacar, que todavía existen varias contradicciones sobre las dosis, vías de administración, forma de preparación, tipos de sustratos y categorías productivas al utilizar este aditivo zootécnico (Montejo-Sierra *et al.* 2017).

En la figura 1 se observa que el uso oral de los microrganismos eficientes redujo la incidencia de diarrea en 2.86 % en relación con el tratamiento control durante los 21 días del estudio.

Como dato interesante, el uso oral de ME disminuyó la incidencia del síndrome diarreico, teniendo en cuenta que es la principal afección de los cerdos lactantes y destetados (Cai *et al.* 2016), provocada principalmente por la disbiosis microbiana; así el uso oral de ME puede modular la microflora intestinal y provocar exclusión competitiva microbiana y a su vez disminuir la pérdida de electrolitos y agua. En este sentido, Miranda *et al.* (2017), demostraron que la suplementación oral con ME en crías y precebas porcinas redujo la presencia de diarreas, estos autores recomendaron esta estrategia práctica para reducir la proliferación de agentes patógenos y el riesgo de infecciones intestinales. También, la presencia de *Lactobacillus spp*. en el GERMEVIT pudo influir en la menor incidencia de diarrea en los cerditos debido a que estas bacterias son probióticos comunes en el TGI, que juegan un rol importante en la defensa contra patógenos y en la función de la barrera intestinal e inmunidad en los cerdos (Yang *et al.* 2017).

En este sentido, Song *et al.* (2010) demostraron que el uso de microorganismos alóctonos (bacterias y levaduras) en la producción de cerdos redujo la incidencia de diarrea y promovió los parámetros bioproductivos. Asimismo, Zamora *et al.* (2020) encontraron que el uso oral de ME y del probiótico VITAFER redujo notablemente el síndrome diarreico en comparación con la dieta control sin aditivos. También, Rodríguez *et al.* (2013) demostraron que el uso

syndrome, due to the reduction of the adhesion of pathogenic bacteria in the intestinal lumen. Valdés-Suárez *et al.* (2019) reported that EM supplementation caused significant changes in the caecal bacterial flora, with a substantial increase in the count of lactic acid bacteria and a reduction in mortality. According to the results obtained and in accordance with the information reported by various authors (Miranda *et al.* 2017 and Valdés Suárez *et al.* 2019), it is confirmed that the oral addition of EM can prevent and control diarrheal processes in pigs.

Table 3 shows that the oral administration of efficient microorganisms (GERMEVIT) did not affect the blood count, whose values are within the normal parameters for suckling pigs.

Table 3. Effect of oral supply of efficient microorganisms (GERMEVIT) on the blood count of suckling pigs

Blood count	Experimental treatments			P value	Reference values*
	Control	Efficient microoorganisms	SE±		
White blood cells, x 10^9/L	9.25	13.12	1.34	0.160	11-22 x 10^9/L
Red blood cells, x 10^{12}/L	6.00	6.06	0.08	0.745	5.0-9.5 x 10^{12}/L
Hemoglobin, g/L	110.00	109.30	1.39	0.813	99-165 g/L
Hematocrit, %	38.43	39.25	0.53	0.474	32-50 %

*Betancur *et al.* (2021)

The hematological parameters are currently used as indicators of human and animal health (Iser *et al.* 2016). In general, it is necessary to determine if a new product, such as EM, can cause changes in these blood parameters. It has been reported that some beneficial microorganisms orally used can induce changes in leukocytes, mainly by activating the immune system to eliminate exogenous material and/or possible toxic and allergenic compounds (Betancur *et al.* 2021). The obtained results show that the use of EM in suckling pigs did not modify these parameters and they are consistent with previous studies (Tufarelli *et al.* 2017 and Rehan and Hotha 2019). However, Vera-Mejía *et al.* (2018), when using a probiotic strain in young pigs, found variable changes in eosinophils, lymphocytes and monocytes, justified by a better specific immune response, although, without notable changes for the red series and the values were within normal parameters.

Despite that in the control treatment there was a higher incidence of diarrhea, compared to the treatment that included the microbial additive (EM), this did not cause a significant value (P = 0.474) for the hematocrit (table 3). This hematological indicator (Ht) has been related to diarrheal syndrome because the loss of electrolytes and water, and subsequent dehydration causes a hemoconcentration of the blood and, in turn, an increase in hematocrit. Apparently, the diarrheal syndrome did not cause affectations that produced changes in this indicator and in the morbidity and

oral de un preparado con microrganismos autóctonos en cerdos disminuyó el síndrome diarreico debido a la reducción de la adhesión de bacterias patógenas en el lumen intestinal. Por su parte, Valdés-Suárez *et al.* (2019) informaron que la suplementación con ME provocó cambios significativos en la flora bacteriana cecal, con un aumento sustancial en el conteo de bacterias ácido-lácticas y reducción de la mortalidad. Según los resultados obtenidos y los mostrados por varios autores (Miranda *et al.* 2017 yValdés Suárez *et al.* 2019) se confirma que la adición oral de ME puede prevenir y controlar los procesos diarreicos en la especie porcina.

La tabla 3 muestra que la administración oral de los microorganismos eficientes (GERMEVIT) no afectó el hemograma y que se encuentran dentro de los parámetros normales de cerdos lactantes.

Los parámetros hematológicos se utilizan actualmente como indicadores de la salud humana y animal (Iser *et al.* 2016). En general, es necesario determinar si un nuevo producto, como los ME, puede provocar cambios en estos parámetros sanguíneos. Se ha reportado que algunos microrganismos benéficos utilizados oralmente pueden inducir cambios en los leucocitos, principalmente por la activación del sistema inmunológico para eliminar material exógeno y/o posibles compuestos tóxicos y alergénicos (Betancur *et al.* 2021). Los resultados obtenidos demuestran que el uso de ME en cerdos lactantes no modificó estos parámetros y son consistentes con estudios previos (Tufarelli *et al.* 2017 y Rehan y Hotha, 2019). Sin embargo, Vera-Mejía *et al.* (2018), al utilizar una cepa probiótica en los cerdos jovenes encontraron cambios variables en los eosinófilos, linfocitos y monocitos, justificado a una mejor respuesta inmune específica, aunque, sin cambios notables para la serie roja y los valores estaban dentro de los parametros normales.

Por otro lado, a pesar de que el tratamiento control tuvo una mayor incidencia de diarrea en comparación con el aditivo microbiano (ME) esto no provocó un valor significativo (P=0.474) para el hematocrito (tabla 3). Este indicador hematológico (Ht) se ha relacionado con el síndrome diarreico, porque la pérdida de electrolitos y agua y posterior deshidratación provoca una hemoconcentración de la sangre y a su vez un incremento del hematocrito, al parecer el síndrome diarreico no afectó de tal forma que se presentaran cambios en este

mortality of pigs (unpublished data).

indicador y en la morbimortalidad de los cerdos (Datos no mostrados).

Conclusion

Oral supply of 5 mL/animal/day of efficient microorganisms (GERMEVIT) during the first seven days of life improve the productive indicators and reduce the presence of diarrhea, without modifying the blood count of suckling pigs up to 21 days of life.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

Author´s contribution

María Celia Carvajal: Original idea, conducting the experiment, writing the manuscript, Experimental design, data analysis, writing the manuscript

R. Aroche: Conducting the experiment, data analysis, writing the manuscript

E. Castro: Experimental design, writing the manuscript

María Rosa León: Experimental design

J. Guilarte: Experimental design

R. Rodríguez: Data analysis, writing the manuscript

Y. Martínez: Data analysis, writing the manuscript

Conclusiones

La administración oral de 5 mL/animal/día durante los primeros 7 días de vida con microorganismos eficientes (GERMEVIT) mejora los indicadores productivos y reduce la presencia de diarreas, sin modificar el hemograma de los cerdos lactantes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflict de intereses

Contribucion de los autores

María Celia Carvajal : Idea original, conducción del experimento, diseño de la investigación, análisis de datos, escritura del manuscrito

R. Aroche: Conducción del experimento, análisis de datos y escritura del manuscrito

E. Castro: Diseño de la investigación y escritura del manuscrito

María Rosa León: Diseño de la investigación

J. Guilarte: Diseño de la investigación

R. Rodríguez: Análisis de datos y escritura del manuscrito

Y. Martínez: Análisis de datos y escritura del manuscrito

References

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 2006 18th Ed. Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, USA.

Betancur, C., Martínez, Y., Tellez-Isaias, G., Castillo, R. & Ding, X. 2021. "Effect of Oral Administration with *Lactobacillus plantarum* CAM6 Strain on Sows during Gestation-Lactation and the Derived Impact on Their Progeny Performance". Mediators of Inflammation, 2021, Article ID 6615960: 1-8, ISSN: 0962-9351, DOI: https://doi.org/10.1155/2021/6615960.

Cai, Y., Martínez, Y., Yao, Q. & Yu, L. 2016. "Review of enterotoxigenic Escherichia coli enterotoxins". Academia Journal of Microbiology Research, 4(1): 5-8, ISSN: 2315-7771, DOI: https://doi.org/10.15413/ajmr.2016.0101.

Cheng, C., Wei, H., Wang, P., Yu, H., Zhang, X., Jiang, S. & Peng, J. 2019. "Early intervention with faecal microbiota transplantation: An effective means to improve growth performance and the intestinal development of suckling piglets". Animal, 13(3): 533-541, ISSN: 1751-7311, DOI: https://doi.org/10.1017/S1751731118001611.

De Bettio, S., Maiorka, A., Barrilli, L.N., Bergsma, R. & Silva, B.A. 2016. "Impact of feed restriction on the performance of highly prolific lactating sows and its effect on the subsequent lactation". Animal, 10(3): 396-402, ISSN: 1751-7311, DOI: https://doi.org/10.1017/S1751731115002001.

Hou, C., Zeng, X., Yang, F., Liu, H. & Qiao, S. 2015. "Study and use of the probiotic *Lactobacillus reuteri* in pigs: a review". Journal of Animal Science and Biotechnology, 6(1): 1-8, ISSN: 2049-1891, DOI: https://doi.org/10.1186/s40104-015-0014-3.

Iser, M., Martínez, Y., Ni, H., Jiang, H., Valdivié Navarro, M., Wu, X., Al-Dhabi, N. A., Rosales, M., Duraipandiyan, V. & Fang, J. 2016. "The Effects of Agave fourcroydes Powder as a Dietary Supplement on Growth Performance, Gut Morphology, Concentration of IgG, and Hematology Parameters in Broiler Rabbits". BioMed Research International, 2016: 1-7, ISSN: 2314-6141, DOI: https://doi.org/10.1155/2016/3414319.

Kim, J.H. & Baik, S.H. 2019. "Probiotic properties of Lactobacillus strains with high cinnamoyl esterase activity isolated from jeot-gal, a high-salt fermented seafood". Annals of Microbiology, 69(4): 407-417, ISSN: 1869-2044, DOI: https://doi.org/10.1007/s13213-018-1424-1.

Liu, G., Aguilar, Y.M., Ren, W., Chen, S., Guan, G., Xiong, X., Liao, P., Li, T., Huang, R.L., Park, I., Kim, S.W. & Yin, Y.L. 2016. "Dietary supplementation with sanguinarine enhances serum metabolites and antibodies in growing pigs". Journal of Animal Science, 94: 75-78, ISSN: 1525-3163, DOI: https://doi.org/10.2527/jas2015-9719.

Más, D., Martínez, Y., Rodríguez, R., Salazar, I., Aroche, R., López, B. & Marcella, D. 2016. "Efecto de la suplementación dietética con polvos de hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y marañón (*Anacardium occidentale*) en el comportamiento productivo y la incidencia de diarrea en cerdos antes y después del destete". Revista Computadorizada de Producción Porcina, 23(2): 106-113, ISSN: 1026-9053.

Michiels, J., Possemiers, S., Degroote, J., Ovyn, A., De Smet, S. & Nakamura, N. 2016. "Feeding *Bacillus subtilis* C-3102 to sows and suckling piglets and to weaned piglets improves parameters of gut health and feed:gain ratio in weaners". Journal of Animal Science, 94: 135-137, ISSN: 1525-3163, DOI: https://doi.org/10.2527/jas2015-9763.

Miranda, J.E., Marín, A., Baño, D. & Hidalgo, L. 2017. "Efecto de dos preparados probiótico sobre los parámetros productivos

y reducción de diarreas en cerdos pre y post destete". Aporte Santiaguino, 10(1): 143-150, ISSN: 2616-9541, DOI: https://doi.org/10.32911/as.2017.v10.n1.190.

Montejo-Sierra, I.L., Lamela-López, L., Arece-García, J., Lay-Ramos, M.T. & García-Fernández, D. 2017. "Efecto de dietas no convencionales con microorganismos nativos en la cría porcina". Pastos y Forrajes, 40(4): 308-314, ISSN: 0864-0394.

Norma Cubana (NC. 585). 2017. Contaminantes Microbiológicos en Alimentos-Requisitos Sanitarios. Boletín NCOnline XIII, 154(10). Available: www.nconline.cubaindustria.cu/.

Ojeda-García, F., Blanco-Betancourt, D., Cepero-Casas, L. & Rosales-Izquierdo, M. 2016. "Efecto de la inclusión de un biopreparado de microorganismos eficientes (IHplus®) en dietas de cerdos en ceba". Pastos y Forrajes, 39(2): 119-124, ISSN: 0864-0394.

Pexas, G., Mackenzie, S.G., Wallace, M. & Kyriazakis, I. 2020. "Environmental impacts of housing conditions and manure management in European pig production systems through a life cycle perspective: A case study in Denmark". Journal of Cleaner Production, 253: 120005, ISSN: 0959-6526, DOI: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120005.

Rehan, H.S. & Hotha, P. 2019. A"ntimicrobial Agents-induced Hypokalemia: A Possible Causality Association". Indian Journal of Critical Care Medicine, 23(4): 175-177, ISSN: 1998-359X, DOI: https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23148.

Rodríguez, H.C., Barreto, G., Bertot, A. & Vázquez, O. 2013. "Los microorganismos eficientes como promotores del crecimiento en los cerdos hasta el destete". REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 14(9): 1-7, ISSN: 1695-7504.

Song, Y., Pérez, V., Pettigrew, J., Martinez-Villaluenga, C. & Mejia, E. 2010. "Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma". Animal Feed Science and Technology, 159(1): 41-49, ISSN: 0377-8401, DOI: https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.04.011.

Tkacheva, E.S. & Medvedev, I.N. 2020. Physiological and biochemical status of newborn piglets. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 548: 082090, ISSN: 1755-1315, DOI: https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/8/082090.

Tufarelli, V., Crovace, A.M., Rossi, G. & Laudadio, V. 2017. "Effect of a dietary probiotic blend on performance, blood characteristics, meat quality and faecal microbial shedding in growing-finishing pigs". South African Journal of Animal Science, 47(6): 875-882, ISSN: 0375-1589, DOI: https://doi.org/10.4314/sajas.v47i6.15.

USDA (United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service). 2018. Livestock and Poultry: World markets and trade. Foreign Agricultural Service/USDA. Office of Global Analysis. Available: https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/jm214p55j/8049g558s/livestock-poultry-ma-04-10-2018.pdf.

Valdés-Suárez, A., Álvarez Villar, V.M., Legrá-Rodríguez, A. & Bueno-Figueras, N.M. 2019. "Efectos de microorganismos eficientes en los indicadores bioproductivos de precebas porcinas". Revista de Producción Animal, 31(2): 1-8, ISSN: 2224-7920.

Vera-Mejía, R.R., Vega-Cañizares, E. & Sánchez-Miranda, L. 2018. "Efecto de *Lactobacillus plantarum* como probiótico en cerdos al destete". Revista de Salud Animal, 40(3): 1-7, ISSN: 0253-570X.

Yang, J., Qian, K., Wang, C. & Wu, Y. 2018. "Roles of probiotic lactobacilli inclusion in helping piglets establish healthy intestinal inter-environment for pathogen defense". Probiotics and Antimicrobial Proteins, 10(2): 243-250, ISSN: 1867-1306, DOI: https://doi.org/10.1007/s12602-017-9273-y.

Zamora, A., Ortiz, A. & Utria, E. 2020. "Efecto de microorganismos eficientes vs. probióticos Vitafer en el control de desórdenes digestivos en preceba porcina". Hombre, Ciencia y Tecnología, 24(4): 100-109, ISSN: 1028-0871.

Received
Accepted